

Etude du comportement alimentaire chez la mouche méditerranéenne du fruit
ceratitis capitata et oryctes monoceros vis-à-vis des antiappétants / L. M.
Gharzani ; sous la direction de Dr. D. Choubaya. — Extrait de : Annales de
recherche scientifique. — N° 7 (2007), pp. 71-77.

Bibliographie. Figures.

I. Habitudes alimentaires. II. Mouche méditerranéenne des fruits. III. Ceratitis.

Choubaya, D.

PER L1049 / FA228156P

ÉTUDE DU COMPORTEMENT ALIMENTAIRE CHEZ LA MOUCHE MÉDITERRANÉENNE DU FRUIT *CERATITIS CAPITATA* ET *ORYCTES MONOCEROS* VIS-À-VIS DES ANTIAPPÉTANTS

L. M. GHARZANI⁽¹⁾

Sous la direction de Dr. D. CHOUBAYA⁽¹⁾

⁽¹⁾ Université Saint-Esprit de Kaslik,
Faculté des Sciences Agronomiques,
B.P. 446 Jounieh, Liban

Résumé

Dans cette étude, des tests de comportement alimentaire ont été effectués sur deux insectes : la Cératite *Ceratitis capitata* et l'Oryctes *Oryctes monoceros*. Deux traitements ont été choisis, l'azadiractine et les phytoecdystéroïdes étant très efficaces pour lutter contre les insectes. Quatre séries de traitement ont été conduites lors du test de l'azadiractine (témoin, doses 1µg/µl, 5µg/µl, and 10µg/µl) et sept séries dans le cas des phytoecdystéroïdes. Le traitement de 0.5% a montré un effet antiappétant très significatif sur l'oryctes. Dans le cas des phytoecdystéroïdes, si l'on utilise la 20 E pure ou extraite, la dose la plus élevée (10µg/µl) a été la plus efficace puisqu'elle a affecté le développement larvaire de la cératite.

Mots clés : *Oryctes monoceros*, *Ceratitis capitata*, phytoecdystéroïdes, azadiractine, antiappétance, perturbateur

Abstract

In this study, we carried out tests on a great number of insects : *Ceratitis capitata* and *Oryctes monoceros*. Two anti appetents were chosen, the azadirachtin and the phytoecdysteroids which are very effective to protect against insects. Four treatments were made while testing the azadirachtin (witness, 0.25%, 0.5% and 1%) and seven while testing the phytoecdysteroids. The treatment of 0.5% azadirachtin showed a significant anti feedant effect on *Oryctes* effect.

For both cases (20E pure and extracted) the results obtained showed that the highest amount (10µg/µl) was most effective since it has affected the larval development of the *Ceratitis* in both cases (pure and extracted).

Key words: *Oryctes monoceros*, *Ceratitis capitata*, phytoecdysteroids, azadirachtin, antiappétance, disturber.

INTRODUCTION

Dans le présent travail, nous avons évalué l'effet de deux antiappétants synthétisés et extraits des plantes : l'azadirachtine et les phytoecdystéroïdes, sur deux espèces de ravageurs qui s'attaquent à des cultures tropicales et méditerranéennes, respectivement : *Oryctes monoceros* et *Ceratitis capitata*.

Nous avons choisi en premier lieu de travailler sur l'azadirachtine puisqu'il est considéré comme un antiappétant très efficace et même toxique pour un grand nombre d'insectes et qui n'a pas été testé sur un ravageur tropical type *Oryctes*; et en deuxième lieu sur la 20 E parce qu'elle représente la molécule la plus connue des ecdystéroïdes (Morin, 1997).

En effet, ces molécules sont synthétisées par les plantes pour assurer fort probablement un rôle de défense. Nous avons ainsi voulu tester cette hypothèse, surtout que les ecdystéroïdes circulent dans l'hémolymphe des insectes pour assurer leur mue, mais elles sont synthétisées par les plantes, pour cela on les appelle phytoecdystéroïdes.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

2.1 Matériels chimiques

2.1.1. NeemAzal

Pour nos tests, nous avons utilisé le **NeemAzal** de Trifolio-M (GmbH,

société allemande) contenant 1% d'azadirachtine A.

2.1.2. Extraction d'ecdystéroïdes des graines d'épinard

Durant le développement de l'épinard, la 20E est transportée des sites de biosynthèse aux régions apicales (fleurs et graines) (Adler et Grebenok, 1995).

Ainsi les graines ont été utilisées et transformées en poudre par broyage. 24 échantillons ont été mis au congélateur durant 4 jours. Pour chaque échantillon mis en éprouvette, 4ml de méthanol ont été ajoutés et mis sur l'agitateur pendant 2h30 dans un bain-marie de 55°C. Puis nous avons laissé décanter pendant 10 min. Cette étape était répétée trois fois, pour obtenir à la fin un volume final de 12 ml de méthanol avec les extraits. Au produit final est ajouté 8ml d'hexane et 5.2 ml d'eau distillée qui subissait par la suite une bonne agitation sur le Vortex afin d'extraire les pigments verts et les lipides apolaires. Le volume obtenu au total était de 25.2 ml et était centrifugé pendant 15 min environ pour aboutir à 2 phases bien distinctes : la phase supérieure qui a été éliminée et la phase inférieure qui a été conservée pour être analysée par l'HPLC. L'extrait obtenu a été mis à température ambiante, à l'air libre pour libérer les solvants. L'évaporation était rapide par rota vapeur pendant 3h à une température de 55 °C.

2.2 Matériel biologique

2.2.1. *Oryctes monoceros*

Les insectes *Oryctes monoceros* étaient maintenus dans une chambre tropicale à 23°C à une humidité relative de 46 % et avec une photopériode de 12 heures de jour (photophase) et 12 heures de nuit (scotophase). Pour les tests, les insectes ont été mis à jeûne pendant 1 semaine.

2.2.2 *Ceratitis capitata*

Les larves ont été élaborées sur un milieu artificiel composé de son, de levure, du sucre, du benzoate de sodium, et de l'acide critique, ajouté à l'eau chaude. La température optimale de l'élevage varie entre 25 et 27°C, l'humidité optimale entre 70 et 75 % pendant la journée. Le pic de luminosité était en relation directe avec la nutrition et l'oviposition de la cératite.

2.3 Protocol expérimental

2.3.1 *Oryctes monoceros* et *Azadirachtine*

Il y a eu 4 séries de tests avec les traitements suivants : eau permutée seule, solutions de NeemAzal à 0.25 %, 0.5 % et 1 %.

Le nombre de boîtes (répétitions) variait entre 13 – 16.

Les insectes étaient placés par paire et de même sexe.

Le comportement alimentaire a été analysé selon deux cas de figures :

- 1) Evaluation selon un indice de 0 à 4
- 2) Mesure de la consommation par pesée de rondelles en début du test (J0) et à la fin du test (J3).

2.3.2 *Ceratitis capitata* et les ecdysteroides

Nous avons mis une seule larve de cératite (entre le deuxième et le troisième stade) par boîte de Pétri. Le nombre de boîtes de Pétri utilisées par traitement était de 30. Dans chaque boîte, deux disques de nourriture littéralement opposés ont été déposés, l'un arrosé par l'eau distillée et l'autre par un traitement de 20E.

Pour la 20E pure, on a utilisé 30 larves/traitement ; ayant trois traitements 1µg/ml, 5µg/ml et 10µg/ml donc la somme était de 90 larves. Pour le témoin : 30 larves, donc pour deux essais on a un total de 60 larves.

2.4 Analyse statistique

Nous avons utilisé le test "t" pour des données appariées en utilisant le logiciel MINI-TAB (INRA) ; avec p = valeur de probabilité, dl = degré de liberté. Les différences ont été signalées de la manière suivante :

- Différence significative: 1-5 %, notée*.
- Différence très significative : 1%-1%, notée**.

- Différence hautement significative : 1% et moins, notée***.
- Différence non significative : >notée NS.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

3.1 Effet de l'Azadirachtine sur l'*Oryctes monoceros*

Pour le témoin, l'analyse de la mesure de la consommation montre qu'il n'y a pas de différence significative avec un $p = 0.790$ et $t = 0.27$. En ce qui concerne les indices de consommation au J3, les valeurs ont été 2.23 et 1.85, $dl=12$. Pour la dose 0.5% (Figure 1), la moyenne de consommation sur la partie non traitée a été de 15.94 g, et sur la partie traitée a été de 1.57g. Il y a une différence très significative avec $p = 0.004 < 1\%$, $t = 3.49$, $dl=12$. En ce qui concerne les indices de consommation au J3, les valeurs ont été respectivement 2.62 et 0.23.

Pour le traitement à 0.25%, la moyenne de consommation sur la partie non traitée a été de 6.14 g, et sur la partie traitée a été de 13.08 g. Il n'y a pas une différence significative avec $p = 0.241 > 5\%$, $t = -1.22$. Ces valeurs n'ont pas une différence significative avec $p = 0.362$, $t = -0.94$.

Pour le traitement à 1%, la moyenne de consommation sur la partie non traitée a été de 9.02 g, et sur la partie

traitée a été de 7.10g. Ces valeurs n'ont pas une différence significative avec un $p = 0.825$, $t = 0.23$.

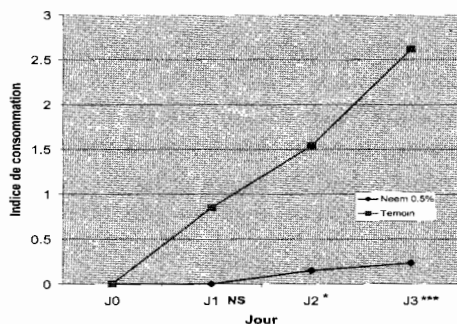


Figure 1 : Evolution de J0 à J3

Nous avons constaté (tableau 1) en analysant les résultats obtenus des quatre séries, que la dose 0.5% de NeemAzal a montré un effet antiappétant très significatif, sur l'*Oryctes monoceros*. Cet effet s'observe à la fois par une réduction de la quantité consommée de J2 à J3.

Le résultat de la dose à 1% reste à élucider et confirmer car aucun effet antiappétant n'a été observé alors que la dose est double de celle du traitement de la série. Une hypothèse possible serait une dégradation de la solution aqueuse à 1% qui a été utilisée une semaine après sa préparation.

3.2 Effet de la 20E sur *Ceratitis capitata*

Nous avons analysé l'application de la 20E pure, et de la 20E extraite des

graines d'épinards sur le résultat de l'analyse quantitative de l'hormone d'ecdystéroïdes extraite des graines d'épinard sur HPLC, a montré la présence de $33.9\mu\text{g/ml}$ dans les 4800mg de poudre d'épinard. Le temps de rétention noté pour le standard a été égal à 3.329 min et pour l'extrait de 2.949 min avec une longueur d'onde $\lambda = 242\text{nm}$.

3.2.1. Effet de la 20E pure sur le comportement de la cératite

Les résultats de consommation sur traité et contrôle, observés en fonction du temps et des différentes doses de la 20E pure, ont montré des différences significatives ou non significatives selon le traitement.

L'effet du produit se divise en deux parties : une mortalité ou une rentrée en pupaison. La pupaison est le résultat de l'expression d'une cascade de gènes qui sont régulés par l'hormone de pupaison, la 20E. Comme résultat, la larve traitée rentre en pupaison précoce et incomplète qui s'avère létale (Retnakaran *et al.*, 2003).

- Pour le traitement $1\mu\text{g}/\mu\text{l}$, l'analyse de la quantité de mortalité et de la pupaison montre qu'il n'y a pas de différence significative avec un $p>5\%$ sur une période de trois jours consécutifs.
- Pour le traitement $5\mu\text{g}/\mu\text{l}$, l'analyse des résultats montre qu'il n'y a pas de différence significative avec un $p>5\%$ pour

les 24h-48h-96h. Les larves vers 48h, ont plus tendance à rentrer en pupaison qu'à 24h, donc sont plus perturbées.

- Pour le traitement $10\mu\text{g}/\mu\text{l}$, l'analyse de la quantité de mortalité à 24h-48h montre qu'il y a une différence significative avec un $p<1\%$, et pour 96h il y a une différence très significative avec un $p<0.5\%$. L'analyse de la quantité de mouches rentrées de pupaison pour 24h-48h montre qu'il y a une différence peu significative avec un $p<5\%$, et pour 96h il y a une différence significative avec un $p<1\%$ donc il y a un effet dose-réponse sur le comportement larvaire (Figure 2).

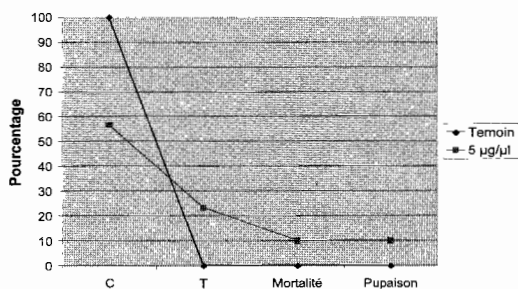


Figure 2: Effet de $10\mu\text{g}/\mu\text{l}$ de 20E pure sur les larves des cératites pour 48h

Ainsi, le produit n'a été efficace qu'à forte dose. En plus, quand la 20E n'exerçait pas un rôle d'anti appétant, elle perturbait la physiologie de l'insecte uniquement (affectant son cycle), et les larves de cératite mouraient après indigestion

et donc intoxication ou rentraient en pupaison.

L'analyse statistique montre, que pour la dose de $10\mu\text{g/ml}$, dose la plus élevée, il y a une perturbation.

D'ailleurs, les insectes oligophages et polyphages, élevés sur des plantes qui contiennent naturellement des phytoecdystéroïdes, ont pu tolérer les petites quantités de 20E, mais ont eu des défauts de développement à haute concentration (Dinan et Blackford MJ, 1997).

3.2.2 Effet de la 20E extraite sur le comportement de la cératite

Nous avons fait les tests d'efficacité des extraits des graines d'épinard en les appliquant sur les disques de nourriture des larves. Les taux de mortalité et de pupaison des larves observées en fonction du temps et des différentes doses de la 20E extraite, montrent :

- Pour les traitements $1\mu\text{g}/\mu\text{l}$ et $5\mu\text{g}/\mu\text{l}$: l'analyse de la quantité de mortalité et de la pupaison montre qu'il n'y a pas de différence significative avec un $p > 5\%$ pour les 24h-48h-72h.
- Pour le traitement $10\mu\text{g}/\mu\text{l}$: l'analyse montre qu'il n'y a pas une différence significative avec un $p > 5$ à 24- 48-72h. L'analyse des taux de pupaison pour 24h-48h montre qu'il n'y a pas une différence significative avec un $p > 5\%$, et pour 72h il y a une différence significative avec un $p < 1\%$.

On a trouvé que plus la dose était forte, plus le pourcentage de mortalité et de pupaison était élevé et cela n'était observable qu'au bout de 72h. Les larves rentraient en pupaison quand elles avaient consommé de la nourriture mélangée à $10\mu\text{g}/\mu\text{l}$, ou elles mourraient.

3.2.4 Comparaison entre effet de la 20E pure et la 20E extraite

En essayant d'évaluer l'effet de la variable type produit, et en comparant l'effet de la 20E pure et la 20E extraite sur le comportement de la cératite, il n'y a aucune différence significative.

CONCLUSION

En premier lieu, nous avons pu au cours de ce travail étudier l'effet de l'azadirachtine sur le comportement alimentaire de l'adulte *Oryctes monoceros*. L'insecte percevait la molécule en tant qu'antiappétant. En second lieu, nous avons voulu étudier l'effet de la 20 hydroxyecdysone sur les larves de la cératite. Nous avons évalué l'effet de deux origines différentes de la même molécule de 20E sur différentes échelles de temps, et selon des courbes dose-réponses. Les résultats obtenus ont montré que la 20E ne possédait pas un rôle antiappétant important vis-à-vis de ce type de ravageurs ; mais par contre, elle possédait un rôle hormonal, perturbateur du cycle de la vie de

l'insecte, comme elle induisait une rentrée en pupaison précoce lorsqu'elle était ingérée. D'autres études sont nécessaires à la poursuite et le développement des résultats obtenus. Beaucoup de preuves ont pointé à la conclusion que toutes les espèces des plantes ont la capacité de produire un minimum de phytoecdysteroides par des modifications des gènes par génie génétique, ce qui a une importante implication dans leur protection.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Adler, JH., and Grebenok, R.J., 1995. Biosynthesis and distribution of insect-molting hormones in plants. A. Review, *Lipids* 30, 257-262.

Dinan, L., Blackford, M.J., 1997. The effects of ingested 20E on the larvae of *Aglaia urticae*, *Inachis io*, *Cynthia cardui* and *Tyria jacobaeae*. *Journal of Insect Physiology*. 43(4) ; pp. 315-327.

Dinan L., Savchenko T, Whiting P., 2001. On the distribution of phytoecdysteroids. *Cell Mol Life sci*. 58(8) ; pp. 1121-1132.

Retnakaran, A., Krell, P., Feng, and Q., Arif, B., 2003. Ecdysone agonists. *Archives of Biochemistry and Physiology*. Vol. 54(4) ; 187-199.

Morin, J.P., 1997. Les phéromones d'insectes ravageurs des palmiers, PRD 91-98 – CIRAD Publications.